Separat-Abdruck aus dem
**Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.**
Herausgeg. von Dr. O. Uhlworm in Cassel. — Verlag von Gustav Fischer in Jena.
II. Jahrgang 1888. — V. Band. No. 1.



# Zur Kenntniss der Verbreitungswege des Milzbrandes.

Von
**Dr. J. Karliński**
in
München.

Ende August 1887 hatte ich im türkischen Dorfe Vitine, an der bosnisch-türkischen Grenze, Gelegenheit gehabt, ein mit exquisitem Lippenmilzbrand behaftetes Schaf in Augenschein zu nehmen. Da diese Erkrankung als alleinstehend in der ganzen Herde befunden wurde, ward das Thier auf meinen Antrag getödtet, in meiner Anwesenheit am Waldesrande im steinigen Boden verscharrt und mit einem etwa $^1/_2$ Meter hohen Steinhügel bedeckt. Als ich nach 10 Tagen, gelegentlich eines Ausflugs, in dieselbe Gegend kam, bemerkte ich, dass der Steinhügel vollständig weggeräumt, der Boden zerwühlt war und aus demselben einzelne Knochen- und Fleischstücke herausschauten. Auf mein Befragen erfuhr ich, dass ausser bei jenem Schafe kein anderer Krankheitsfall in der Herde vorgekommen sei, und dass das Aufwühlen des Grabes lediglich auf die Thätigkeit von Hunden und Füchsen zurückzuführen sei, ein Umstand, der bei dem steinigen, mit wenig Erde bedeckten Boden, Karstboden, Südbosniens keine Seltenheit ist. An den einzelnen, theilweise durch Moos bedeckten, verwesten Fleischpartieen konnte ich neben zahlreichen Fliegenlarven einzelne Exemplare von Schnecken, wie Arion subfuscus Draparn., Limax laevis Müller und Tachea nemoralis L., wahrnehmen, Arten, die ich in jener Gegend sehr oft vorfand. Da mir aus meinen faunistischen Forschungen die Gewohnheit der Schnecken, beim Eintritte der trocknen Jahreszeit lange Wanderungen zu unternehmen, bekannt war[1]) und

1) Dass die anscheinend trägen Schnecken bei Eintritt der Hitze binnen kurzer Zeit grössere Strecken zurückzulegen vermögen, können folgende Thatsachen beweisen: a) 4 Stück ausgewachsene Exemplare von Arion subfuscus wurden um 11 Uhr Vormittags auf eine Sandbank gelegt, wobei die Lufttemperatur 30° C betrug. Um 6 Uhr Nachmittags waren sämmtliche Exemplare im Schatten am Fusse eines grossen Steines, der 110 Schritte entfernt lag, versammelt; die deutlichen Spuren, die die obenerwähnten Thiere im Sande hinterlassen, führten direkt dahin. b) 5 Stück von Arion subfuscus und Daudebardia wurden auf dieselbe Sandbank um 12 Uhr Vormittags gelegt, und um 4 Uhr Nachmittags im Schatten an einem 130 Schritte entfernten Orte gefunden.

ausserdem das Vorkommen dieser Schnecken am verwesten, milzbrandigen Kadaver etwas bedenklich schien, beschloss ich nach längerer Zeit, einige Untersuchungen über die eventuelle Rolle der Schnecken als Milzbrandverschlepper vorzunehmen, und lege hiermit meine diesbezüglichen Resultate vor.

Vor allem verschaffte ich mir eine grössere Menge von nachstehenden Schneckenarten: Arion empiricorum Ferussac (Syn.: Arion rufus, A. ater), Arion subfuscus Draparn. (Syn.: Limax subfuscus, Arion fuscus), Limax cinereoniger Wolf (Syn.: Limax maximus, L. cinereus), Limax cinereus Lister; Limax laevis Müller (Syn.: L. bruneus), Tachea nemoralis L. (Syn.: Helix nemoralis) und Daudebardia sp., welche Arten nach Clessin bestimmt wurden und sehr leicht in der Umgebung Innsbrucks zu erlangen waren. Die einzelnen Exemplare wurden in grossen Standgefässen mit Drahtnetzbedeckung aufbewahrt und mit frischen Kohl- und Salatblättern genährt.

Durch zahlreiche Impfversuche constatirte ich vor allem, dass die obenerwähnten Arten für Milzbrand unempfindlich sind. Das Einspritzen von unverhältnissmässig grossen Mengen ($^1/_4$—$^3/_4$ ccm) von verflüssigten Gelatinekulturen virulenten Milzbrands vermochte nicht dieselben abzutödten. Die eingespritzte Flüssigkeit wurde ganz einfach absorbirt, ohne dass die Bacillen längere Zeit in den Lymph- und Blutbahnen sich zu halten vermochten; wenigstens wurde an einzelnen am Gefriermikrotom verfertigten Schnittpräparaten schon nach Verlauf von $1^1/_2$ Stunden ein beinahe gänzliches Verschwinden von Bacillen constatirt. Im Gewebe fanden sich nur einzelne, gekörnte und undeutliche Contouren aufweisende Bacillen nebst einer sich ebenfalls nach Gram färbenden Detritusmasse. Bei Versuchen, in denen den zwei obenerwähnten grössten Arten der Nacktschnecken grössere Mengen von verflüssigten Milzbrandkulturen tief in den Körper injicirt wurden, gingen einzelne zu Grunde; die Todesursache aber ist lediglich nur der Zerreissung des Herzens oder des grossen Blutgefässes zuzuschreiben, da die Obduction derselben 1) die Läsion der obenerwähnten Organe vorzeigte, 2) keine Bacillen im Gewebe nachzuweisen waren, 3) derselbe Erfolg durch Einstecken der Nadel in dieselben Stellen, gleichgültig ob mit nachheriger Injection von irgend welcher indifferenten Flüssigkeit (Salzlösung, Blutserum) oder nicht, denselben Erfolg herbeiführte. Die rasche Abtödtung des erprobten virulenten Milzbrandes innerhalb des Schneckenkörpers konnte ich wenigstens bis dahin constatiren, dass ich mit dem Gewebesafte, welcher schon nach 20 Minuten aus dem durch die Injection künstlich erzeugten Oedeme entnommen wurde, keine Infection der Mäuse und Meerschweinchen erzeugen konnte, und durch Anwendung des üblichen Plattenverfahrens entweder gar keine oder nur unverhältnissmässig geringe Anzahl von Milzbrandkolonieen bekommen konnte. Ob der von obengenannten Schneckenarten abgesonderte zähe Schleim oder andere Momente, die Abtödtung der eingespritzten Milzbrandbacillen bewirkend, an der Immunität Schuld tragen, muss ich vor-

läufig dahingestellt sein lassen, hier kann ich nur bemerken, dass ich die obengenannten Resultate sowohl bei Anwendung des sporenfreien wie des sporenhaltigen Materials bekommen habe. Ob bei Anwendung des letzteren eine Abtödtung oder nur eine wesentliche Verminderung der Entwicklungsfähigkeit der Sporen stattgefunden hat, kann ich bis jetzt nicht entscheiden. Bei Anwendung der üblichen Sporenfärbungsmethode habe ich in dem durch die Injectionsflüssigkeit erzeugten Gewebeinfiltrate hier und da sich roth färbende Partikelchen nachgewiesen, die vielleicht auf Vorhandensein von Sporen zurückzuführen wären, die aber auch von ungenügender Entfärbung herrühren können. Andererseits sprechen die aus dem Gewebesaft gewonnenen, ungemein spärlichen Milzbrandkolonieen auf Platten dafür, dass nicht das ganze Material durch Einwirkung etwa mitspielender schädlicher Einflüsse vernichtet wurde.

Nach der Constatirung, dass die obenerwähnten Schneckenarten für Milzbrand unempfindlich sind, stellte ich mir die doppelte Frage: 1) kann man durch Fütterung Milzbrand bei diesen Thieren erzeugen? 2) können die in den Darmkanal eingeführten Milzbrandbacillen und Sporen längere Zeit ohne Beeinträchtigung ihrer Entwicklungsfähigkeit verbleiben oder nicht? Zu diesem Zwecke wurden die zur Fütterung benutzten Kohl- und Salatblätter mit reichlichen Mengen Milzbrandkulturen in Bouillon besprengt, wie auch ganze, mit Milzbrand bewachsene Kartoffelscheiben den Thieren als Futter vorgelegt. Vor jedem Versuch wurde die Virulenz und das Vorhandensein der Sporen geprüft. Nach 1- bis 4tägiger Fütterung wurden die einzelnen Exemplare herausgenommen, im Wasserleitungsstrahl einige Minuten gewaschen und nachher in einen neuen, vorher gereinigten Behälter gethan. Hier kann ich bemerken, dass die Fütterungsversuche, von denen einige bis auf die Dauer von 14 Tagen verlängert wurden, sämmtlich, was die Erzeugung des Milzbrandes anbelangt, negativ ausfielen; die Thiere nahmen gern mit Milzbrandkulturen bestrichene Gewebetheile zu sich, ohne dass ein Erfolg zu verzeichnen wäre. Die mikroskopische Untersuchung der meistens grünlich-schwarz gefärbten, wurstförmigen Exkremente ergab, was das Vorhandensein von Milzbrandbacillen anbelangt, keine sicheren Resultate, und zwar aus dem Grunde, weil in den Exkrementen eine ungeheuer grosse Anzahl von verschiedenen Bakterienarten sowie Spross- und Schimmelpilze enthalten war, und unter diesem Gemisch ein positiver mikroskopischer Nachweis von Milzbrandbacillen mir zu gewagt erschien. Bei entsprechender Verdünnung des Materials gewonnene Platten zeigten ebenfalls ein Gemisch von allerlei verschiedenen, meist Gelatine verflüssigenden Bakterienarten und nur in den Fällen, wo die Exkremente von Thieren, die ausschliesslich mit sporenhaltigem Material gefüttert wurden, herstammten, wurden unzweifelhafte Milzbrandkolonieen, allerdings in sehr kleiner Menge vorgefunden. In allen übrigen kamen keine Milzbrandkolonieen zur Entwicklung. Um dem Einwande, dass die etwa vorhandenen Milzbrandkeime von aussen, z. B. von der schleimigen Ober-

fläche der Thiere hineingefallen seien, vorzubeugen, tödtete ich, nach sorgfältiger Abspülung der Oberfläche mit $^2/_{1000}$ Sublimat, einzelne Thiere durch Hineinwerfen in siedendes Wasser und drückte, nach vorhergehender Durchschneidung, den Darminhalt derselben in ein gereinigtes steriles Uhrschälchen aus. Nachdem der Inhalt $^1/_2$ Stunde der Einwirkung der trockenen Hitze von 110° C ausgesetzt worden war, ward er sowohl zum Plattenverfahren als zu Thierversuchen verwendet. In allen Fällen, wo zur Fütterung der Thiere sporenhaltiges Material verwendet wurde, erhielt ich auf den Platten zahlreiche Milzbrandkolonieen nebst spärlichen grau-weissen, festwachsenden Bacillenkolonieen und einigen Schimmelpilzen; in denselben Fällen erwies sich der Darminhalt als virulent, da von 7 Mäusen, 2 Meerschweinchen und 1 Kaninchen sämmtliche dem Milzbrand erlagen. Von den Kontrolethieren, die mit der Exkrementenaufschwemmung der Schnecken, die nur mit sporenfrei-em Material gefüttert wurden, wo die Exkrementenmasse der Einwirkung der trockenen Hitze nicht ausgesetzt war, geimpft waren, ging nur eine Maus zu Grunde, und zwar nicht an Milzbrand, sondern an acuter Septikämie, die durch eine, nicht näher untersuchte Kurzstäbchenart bewirkt wurde. Die auf den Platten zur Entwicklung gelangten Milzbrandkolonieen erwiesen sich für Mäuse und Meerschweinchen als pathogen, ein Beweis, dass die im Darminhalt beherbergten Sporen keineswegs abgeschwächt wurden. Um zu bestimmen, wie lange die Milzbrandsporen im Darminhalt der Schnecken verbleiben können, wurden 12 Stück Schnecken und zwar: Arion subfuscus, Limax cinereo niger, Limax laevis, Tachea nemoralis und einzelne Exemplare der Art Daudebardia durch einen Tag mit Kohlblättern, die mit sporenhaltigem Milzbrand reichlich besprengt wurden, gefüttert, nach gründlicher Abwaschung in einen neuen Behälter gethan und in täglichen Zwischenräumen, während denen eine milzbrandfreie Nahrung gegeben wurde, getödtet und untersucht. Als Resultat erhielt ich: dass im Darminhalt das Vorhandensein der Milzbrandsporen bis zum 11. Tage nachweisbar sei, und zwar erwiesen sich die kleineren und jüngeren Arten als am längsten Milzbrand beherbergend. Zwischen dem 7. und 11. Versuchstage war die Anzahl der vorhandenen Milzbrandkeime im Darminhalt allerdings im Vergleich mit den vorigen Tagen kleiner, grösser jedoch bei den kleineren Exemplaren, wie Limax laevis und Daudebardia, als bei den grösseren Arion- und Limaxarten. Dies wurde sowohl an dem Darminhalt wie auch spontanen Entleerungen constatirt.

Fassen wir die Ergebnisse der Untersuchung zusammen, so zeigt sich vor allem, dass die gegen Milzbrand immunen Schnecken lange Zeit Milzbrandsporen, ohne ihre Virulenz zu beeinträchtigen, beherbergen können. Da bei der Zerlegung der dem Milzbrand erlegenen Thiere die bewachsene Erdoberfläche mit milzbrandsporenhaltigen Sekreten besudelt sein kann, da weiter aus den Exkreten der milzbrandkranken Thiere sehr leicht Milzbrandsporen auf die zur Schneckennahrung dienenden Pflanzen fallen können,

da die Schnecken in der Nahrung keineswegs wählerisch sind, scheint mir nach den oben geschilderten Untersuchungen die Rolle der Schnecken als Milzbrandverbreiter gar nicht unterschätzenswerth. Die Milzbrandsporen beherbergenden Exkremente, bei der Beweglichkeit der Schnecken auf entferntere Plätze abgelagert, können daselbst unter Umständen einen Krankheitsherd bilden, da nach Eintrocknen in Staub zerfallene Exkremente, auf dem Futter abgelagert, sehr leicht in den Körper anderer Thiere gelangen können. Es ist auch nicht auszuschliessen, dass beim Grasen kleine Schneckenarten, in deren Darminhalt sich vielleicht Milzbrandsporen befinden, direkt verzehrt werden, wodurch die Möglichkeit einer Infection nur grösser werden kann.

Ich bin weit davon entfernt, zu glauben, dass die Schnecken die alleinigen Milzbrandverschlepper sind, da dies auch ohne Zwischenträger durch Wind und Wasser zu Stande kommen kann; ich glaube nur durch meine Untersuchung dargelegt zu haben, dass dies in der Natur möglich ist, und dass die Schnecken, deren Zwischenträgernatur für einzelne Entozoen bereits constatirt wurde, dies auch für Milzbrand sein können.

München, im November 1888.

---

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.